

THESIS

MUNICH

1966

UNTERSUCHUNGEN ZUR FRAGE DER EXISTENZ
EINES FETALFIBRINOGENS
BZW. DER HYPERKOAGULABILITÄT
DES NABELSCHNURBLUTES

Klaus Gerbitz

LANE MEDICAL LIBRARY OF
STANFORD UNIVERSITY
300 PASTEUR
PALO ALTO, CALIFORNIA

UNTERSUCHUNGEN ZUR FRAGE DER EXISTENZ
EINES FETALFIBRINOGENS
BZW. DER HYPERKOAGULABILITÄT
DES NABELSCHNURBLUTES

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfasst und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Klaus Gerbitz
aus Wriezen

München 1966

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter:	Prof. Dr. R. MARX
Mitberichterstatter:	Prof. Dr. G. SCHWIEGK
Dekan:	Prof. Dr. M. KIESE

Tag der mündlichen Prüfung: 11.10.1966

DEM ANDENKEN MEINES VATERS
IN DANKBARKEIT MEINER MUTTER



Digitized by the Internet Archive
in 2026

INHALTSANGABE

A. EINLEITUNG	5
1. Ziel der vorliegenden Arbeit	5
2. Problem der Hyperkoagulabilität	5
3. Verschiedene Erklärungsmöglichkeiten	6
4. Die Hypothese eines spezifischen Neugeborenen-Fibrinogens	8
B. MATERIAL UND METHODEN	9
1. Verwendete Substanzen und Geräte	9
2. Blutabnahme und Lagerung	10
3. Reindarstellung des Fibrinogens	11
4. Thrombinzeit und Thrombinverdünnungsreihe	12
5. Verunreinigungen mit fibrinolytischen Substanzen	12
6. Thrombokinaseverdünnungsreihe	13
7. TEG-Untersuchungen	13
C. VORBEMERKUNGEN	14
1. Fibrinogen	14
2. Prothrombin und Thrombin	16
3. Andere Faktoren der Gerinnung	19
4. Mögliche Einflüsse auf Thrombinzeit und Thrombinverdünnungsreihe	51

D. EIGENE UNTERSUCHUNGEN	23
1. Thrombinverdünnungsreihen	23
2. Verdünnungsreihe mit Trasylol in der Vorlage	30
3. Fibrinogenverdünnungskurve	32
4. Thrombokinaseverdünnungsreihe	33
5. TEG-Untersuchungen	34
6. Verunreinigungen des Kekwick-Fibrinogens	36
7. Zusammenfassung der Ergebnisse und Diskussion der Hyperkoagulabilität	37
F. LITERATURVERZEICHNIS	43

A. EINLEITUNG

1. ZIEL DER VORLIEGENDEN ARBEIT

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, neuere Untersuchungen über die Gerinnungsfähigkeit von Neugeborenenblut (Nabelschnurblut) darzustellen. Hauptsächlich die Möglichkeit eines besonders gerinnungsfähigen, spezifischen Neugeborenenfibrinogens (Fetalfibrinogen) und dessen angeblich erhöhte Thrombinsensibilität (22) sollten untersucht werden.

2. PROBLEM DER HYPERKOAGULABILITÄT

Die Fähigkeit von Nabelschnurblut -in einem Teil der Fälle- in vitro schneller zu gerinnen als normales Erwachsenenblut ist seit längerem bekannt (1). Ob diese erhöhte Gerinnungsbereitschaft auch auf die Verhältnisse in vivo übertragen werden kann, ist noch nicht geklärt. Von Jaschke und Romanowskj (1) haben gezeigt, dass bei fehlender Abnabelung, z.B. bei durch Sturzgeburt bedingtem Abriss der Nabelschnur, nur in 10 % der Fälle Blutungen aus dem Nabelschnurrest auftreten. Diese Tatsache ist aber nicht allein gerinnungsphysiologisch zu erklären, sondern muss als Hämostase aufgefasst werden, von der die Gerinnung nur ein Teilgebiet darstellt. Beim Abriss der Nabelschnur tritt ein Schutzmechanismus gegen die Verblutung ein, indem sich die Gefäßmuskulatur an der Rissstelle durch Kontraktion sofort einrollt und somit die Gefäße verschlossen werden (27).

Die Beobachtungen der Verhältnisse in vitro sind in neuerer Zeit durch weitere Versuche belegt worden. Beller, Künzer u.a. haben anhand von Versuchen mit bestimmten Testen, z.B. der Thrombelastographie der Heparintoleranzzeit, der Rekalkifizierungszeit und dem Prothrombin-Consumptionstest aufgezeigt, dass im Nabelschnurblut in einem hohen Prozentsatz der Fälle in manchen Testen eine erhöhte Gerinnungsbereitschaft zu finden ist (1, 19, 21, 22). Diese Tatsache

erscheint umso erstaunlicher, als zu gleicher Zeit beobachtet wurde, dass bestimmte gerinnungsfördernde Faktoren (Faktor II, VII und X nach de Nicola und Beller (33, 1), Faktor II, V und VII nach Ludwig (25) und Faktor II, V, VII, VIII, IX und X nach Künzer (22)) stark, zum Teil extrem erniedrigt sind, während die Inhibitoren der Gerinnung entweder normal (1) oder erhöht sind (22). Genaue Angaben über den Titer der einzelnen Gerinnungsfaktoren sind schwierig, da die einzelnen Autoren aufgrund verschiedener Untersuchungsmethoden zu unterschiedlichen Ergebnissen gekommen sind. Als sicher kann eine verminderte Aktivität von wichtigen Progerinnungsfaktoren angenommen werden (1, 15, 22, 25, 29), während über die Aktivität der Inhibitoren der Gerinnung aufgrund der geringen Anzahl und der Verschiedenheit der Ergebnisse der einzelnen Autoren keine sicheren Angaben gemacht werden können. In der folgenden Tabelle (siehe S. 7) sind einige Vergleichswerte des mütterlichen Blutes unter der Geburt und des Nabelschnurblutes dargestellt.

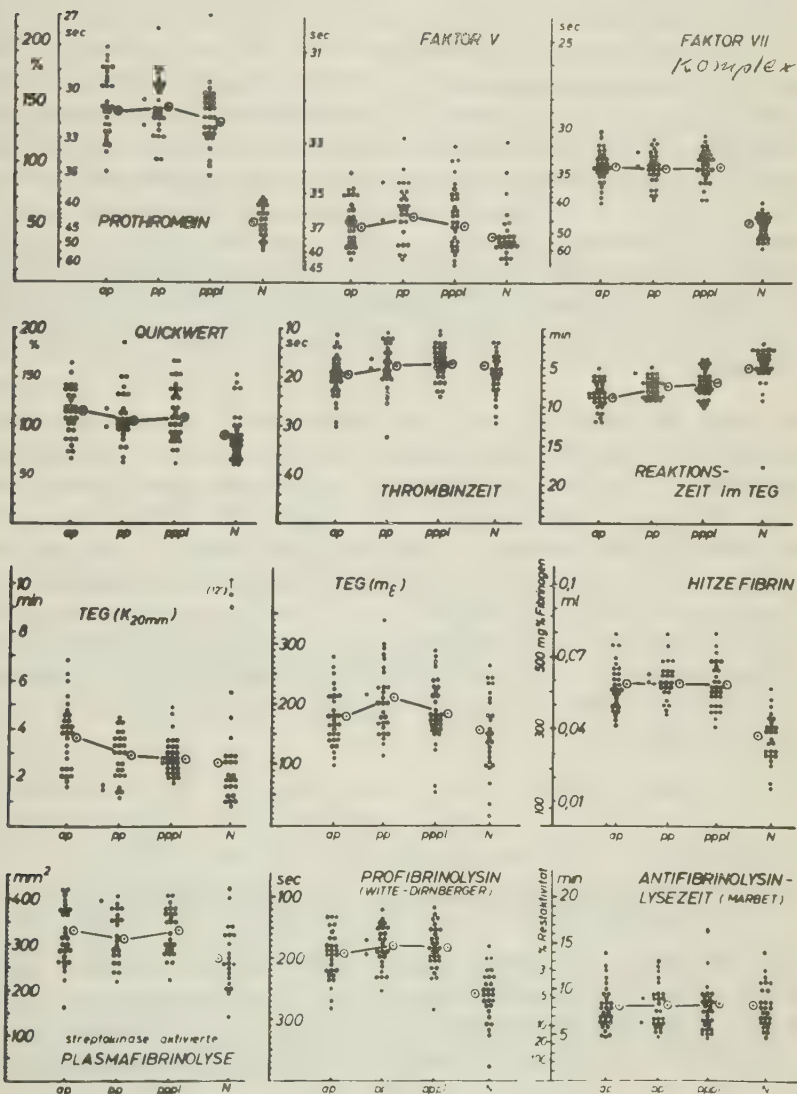
Man würde aufgrund der verminderten Konzentration der gerinnungsfördernden Faktoren eine schwere hämorrhagische Diathese vermuten (22). Dass dennoch eine Normo-, ja Hyperkoagulabilität im Nativvenenblut der Nabelschnur bestehen kann, hat zu Überlegungen geführt, die im folgenden kurz besprochen werden sollen.

3. VERSCHIEDENE ERKLÄRUNGSMÖGLICHKEITEN

Die Möglichkeit eines Übertritts von Gewebsthrombokinase (Placentathrombokinase) in das kindliche Blut wird von Runge und Mitarbeitern diskutiert (cit. n. 1). Da Gewebsthrombokinase schon in geringen Mengen im Sinne einer Verkürzung der Gerinnungszeit zu wirken vermag, könnte etwa aus dem retroplacentaren Hämatom in die Nabelvene ausgeschwemmte Placentathrombokinase für die Hyperkoagulabilität verantwortlich gemacht werden. Von Charles Schneider (37) wird angegeben, dass die Placenta zur Zeit des Geburtstermins 1500 E/g Thromboplastin enthalte (in Mäuse-Einheiten pro Gramm Ausgangsmaterial), - vergl. Gehirn 50 E/g. Auch Ziliacus (44) spricht von einer Anreicherung der Thrombokinase in der Placenta gegenüber den anderen Organen im Körper. Der Theorie der Ausschwemmung von Placentathrombokinase in den Nabelschnurkreislauf steht aber die offensichtliche Unfähigkeit der Thrombokinase gegenüber, infolge ihres hohen Molekulargewichtes die Placentarschranke überschreiten zu können (1, 24). Immerhin besteht die Möglichkeit, dass geringfügige Ver-

BLUTGERINNUNG UND FIBRINOLYSE UNTER DER NORMALEN GEBURT

ap Muttermund vollständig eröffnet
pp nach der Geburt des Kindes
pppl nach Lösung der Plazenta
N: Nabelschnurblut



letzungen der Placenta diesen Übertritt ermöglichen.

Nach Beller (1) ist in 30 % der Fälle eine Hyperfibrinolyse im Nabelschnurblut nachweisbar. Auch Künzer (22) spricht von einer starken Fibrinolyse und Fibrinogenolyse im Nabelschnurblut. Es ist bekannt, dass Plasmin (Fibrinolysin) die Blutgerinnung in ähnlicher Weise aktiviert wie Thrombin (10, 11). Ähnlich verhält sich das fibrinolytisch wirkende Ferment Trypsin (7, 11). Es besteht also die Möglichkeit, dass durch Fibrinolyseinduktion mit geringen Mengen von Plasmin die Gerinnung in Gang gesetzt wird. Gross, Hartl, Kloss und Rahn (10) konnten zeigen, dass nach niedrig dosierten Infusionen mit Streptokinase sich die thrombelastographischen Werte im Sinne einer Verkürzung von r und k_1 änderten. Nach Untersuchungen von Beller (1) waren die Werte im Nativ-Nabelschnurblut-TEG besonders dann stark verkürzt, wenn gleichzeitig eine Hyperfibrinolyse nachweisbar war. Die Tatsache, dass Fibrinolytika auch Einfluss auf die Gerinnung nehmen und eine erhöhte Gerinnungsbereitschaft zur Folge haben, könnte zur Klärung einer Hyperkoagulabilität im Nabelschnurblut beitragen, sie würde auch die relativ niedrige Konzentration an Fibrinogen erklären können.

Nach Marx (29), Quick (cit. n. 1), auch nach neueren Untersuchungen von Seegers (42) besteht die Möglichkeit, dass im Nabelschnurblut ein besonders aktives Prothrombin vorliegt. Auch Künzer (21) spricht von einem qualitativ andersartigen Verhalten des fetalen Prothrombins. Gegen diese Vorstellungen sind gewisse Zweifel erhoben worden (1). Lasch und Roka verlegen die Bildung des Prothrombins in die Leber und das RES (23). - Von anderen Autoren (Schmid, Miletti, Paola, Witte und Dirnberger, cit. n. 1) wird das Knochenmark als Bildungsstätte diskutiert. - Da das Neugeborene seine Gerinnungsfaktoren selber zu bilden vermag, erscheint es nach Beller u. a. unwahrscheinlich, dass die Leber des Neugeborenen als werdendes Organ ein besonders aktives Prothrombin zu bilden vermag (1).

4. DIE HYPOTHESE EINES SPEZIFISCHEN NEUGEBORENEN-FIBRINOGENS

Künzer kam durch seine Untersuchungen mit Afibrinogenämieplasma, das durch völligen Mangel an Fibrinogen ausgezeichnet ist, zu der Hypothese eines spezifischen Neugeborenen-Fibrinogens, das sich qualitativ in Bezug auf seine Gerinnungsfähigkeit vom normalen Erwachsenen-Fibrinogen unterscheiden soll (22).

Künzer versetzte Plasma vom Neugeborenen sowie vom Erwachsenen mit Afibrinogenämieplasma im Überschuss. Da Afibrinogenämieplasma alle zur Gerinnung nötigen, sowohl die fördernden, als auch die hemmenden Faktoren, in ausreichender Konzentration enthält -bis auf den völligen Mangel an Fibrinogen- schloss Künzer aus der auftretenden Differenz der Gerinnungszeiten der adaptierten Mischplasmen auf eine besondere Qualität des Neugeborenen-Fibrinogens (22).

Da nach unserer Auffassung die Differenz der Mischplasmen, mit denen Künzer gearbeitet hat, nicht nur vom Fibrinogen allein abzuhängen braucht, da auch alle anderen Faktoren, wenn auch verdünnt, vorlagen, ist es nur möglich, die besondere Gerinnungsfähigkeit des Neugeborenen-Fibrinogens mit möglichst gut gereinigten Fibrinogenpräparaten zu untersuchen.

Die vorliegende Arbeit soll Untersuchungen hauptsächlich über dieses hypothetische spezifische Neugeborenen-Fibrinogen darlegen, die mit hochgereinigten Fibrinogenlösungen ausgeführt wurden. Es gelang uns, das Fibrinogen, sowohl vom Neugeborenen (Nabelschnur) als auch vom normalen Erwachsenen nach der Methode von Kekwick (18) gereinigt darzustellen."

B. MATERIAL UND METHODEN

1. VERWENDETE SUBSTANZEN UND GERÄTE

Äther

Aqua bidest, entmineralisiert

Nativblut und Plasma vom Neugeborenen und vom normalen Erwachsenen

Diäthylbarbitursäure (Puffer, pH-Wert = 7,6)

Fibrinogen, selbsthergestellt von Neugeborenen und vom Erwachsenen, sowie vom Rind (Behringwerk)

Kochsalzlösung, physiologische als Lösungs- und Verdünnungsmittel.

Natrium-Citrat 3,8 % und 7,6 %

Paraffin

Reinagar (Behringwerk)

Streptokinase, Streptase^R (Behringwerk)

Test-Thrombin (Behringwerk)

Trasylol (Bayer 3380, Kalikreinaktivator)

Xylol

Citratpuffer (pH = 6,1. Ionenstärke J = 1,0)

Citrat-NaCl-Lösung (Stocksche Lösung)

Na₂HPO₄-Lösung

Salzsäure

Thrombokinase, Human-Cerebrum-Thrombokinase nach Quick

Thrombelastogramm nach Hartert

Gefriertrockenapparat, Christ

Kühlschrank, Kühlraum und Tiefkühltruhe (-18 Grad Celcius)

2. BLUTENTNAHME UND LAGERUNG

Die Blutentnahme geschah durch Punktion der Nabelvene von reifen Neugeborenen.

Wir arbeiteten mit folgenden Vorlagen:

Citrat 3,8 % / Blut 1 ad 10 (4 Fälle)

Citrat 3,8 % / Blut 1 ad 5 (2 Fälle)

0,5-Citrat 7,6 % + 0,5 Trasylol (250 E) / Blut ad 10 (2 Fälle)

In zwei Fällen arbeiteten wir im vollsilikonisierten System (Citrat 3,8 % 1 ad 10). Punktiert wurde in allen Fällen mit einer Plastikspritze, die Punktionsverletzung möglichst klein gehalten, um eine Verunreinigung mit Gewebsthrombokinase (Stichthrombokinase) weitgehend auszuschliessen. Der erste ccm des abgenommenen Blutes wurde verworfen, dann im vollen Strahl bis zur erforderlichen Marke aufgezogen.

Da wir aus einer Nabelschnur im Durchschnitt nur 20 ccm abnehmen konnten, diese Menge für die Reindarstellung des Fibrinogens aber zu wenig ausgiebig gewesen wäre, sammelten wir meistens ungefähr 100 ccm Blut, das wir zusammen nach der Kekwick-Methode verarbeiteten.

Die Blutentnahme beim Erwachsenen geschah durch Punktion der vena cephalica bei vier verschiedenen Personen. Die Vorlagen, mit denen wir arbeiteten, waren jeweils parallel die gleichen wie bei den Nabelschnurabnahmen. Auch wurde versucht, die beiden parallelen Abnahmen zu gleicher Zeit zu unterneh-

men, um jeweilige Altersunterschiede der verglichenen Blutvolumina auszuschalten.

Die abgenommenen Blutmengen wurden in vier verschiedene Gruppen eingeteilt:

1. wir zentrifugierten thrombozytenfrei und begannen sofort danach mit der Reindarstellung des Fibrinogens.

Wir zentrifugierten thrombozytenfrei und liessen dann das Plasma

2. bei + 2 Grad 4 Tage lang im Kühlschrank
3. bei - 18 Grad 4 Tage lang in der Tiefkühltruhe
4. bei Zimmertemperatur 4 Tage lang stehen.

Nach dem Zentrifugieren wurde bei allen Plasmen die Thrombinzeit bestimmt. Bei den beschriebenen Plasmen 2-4 wurden die Thrombinzeiten nach der 4-tägigen Lagerung wiederholt. Wir wollten damit etwaige Alters- oder Kälteeinflüsse auf die Thrombinzeit dieser Plasmen untersuchen.

3. DIE REINDARSTELLUNG DES FIBRINOGENS

Wir verwendeten die Methode nach Kekwick (18). Zuerst hatten wir mit Schwierigkeiten zu kämpfen, besonders beim Nabelschnurblut, von dem ja bekannt ist, dass es selbst bei sorgfältiger Abnahme sehr zum Angerinnen neigt. Auch während der einzelnen Stufen des Entwicklungsganges waren mitunter Angerinnungen festzustellen, teilweise als fadenförmige Ausflockungen, wobei wir hierbei auf denaturiertes (pH-Wert, Temperatur) Fibrinogen schlossen. Auch Verunreinigungen mit thromboplastischen Substanzen im verarbeiteten Plasma sind nicht völlig auszuschliessen. Der prozentuale Ertrag betrug im Mittel, sowohl für Neugeborenen-Fibrinogen als auch für Erwachsenen-Fibrinogen, 25 %. Ausgangswerte für diese Berechnung waren beim Neugeborenen 140 mg% = 100 % und beim Erwachsenen 220 mg% = 100 %.

Kekwick gibt für seine Methode einen Reinigungsgrad von 97 % an. Er wurde auch von uns erreicht. Nachgeprüft wurde das mit der Eiweissuntersuchungsmethode nach Kjeldahl auf folgende Weise:

1 ml der gereinigten Fibrinogenlösung wurde nach Kjeldahl auf Eiweiss untersucht, ein weiterer ml derselben Fibrinogenlösung wurde mit 15 E Thrombin ver-

setzt. Dann liessen wir eine halbe Stunde gerinnen. Der entstandene Thrombus wurde sorgfältig ausgedrückt und mehrmals in aqua dest. gewaschen, dann ebenfalls nach Kjeldahl untersucht. Aus der Differenz beider Untersuchungen konnten wir auf den Gehalt an Fibrinogen schliessen. Er betrug im Mittel 97 %. Über die Art der 3 % Verunreinigung können wir keine Angaben machen.

4. THROMBINZEIT UND THROMBINVERDÜNNUNGSREIHE

Thrombinzeiten zur Kontrolle der Gerinnungsfähigkeit wurden im Plasma sofort nach dem Zentrifugieren, bei den beschriebenen Plasmen nach der viertägigen Lagerung und nach der Reindarstellung des Fibrinogens, gemacht.

Zum Vergleich der reinen Fibrinogenlösungen, vor allem zur Untersuchung von Künzers These einer erhöhten Thrombinsensibilität des Neugeborenen Fibrinogens, setzten wir Thrombinverdünnungsreihen an. Die Konzentration an Fibrinogen wurde bei den verglichenen Lösungen auf gleiche Höhe eingestellt und konstant gehalten, während wir das Thrombin von einem Ausgangswert von 6 E/ccm bis zu 0,5 E/ccm schrittweise verdünnten.

Bei zwei Untersuchungen hielten wir umgekehrt Thrombin konstant, während wir das Fibrinogen schrittweise verdünnten. Wir wollten damit untersuchen, wie die beiden verglichenen Fibrinogene auf die Verdünnung mit aqua dest. reagieren.

Die Thrombinkurven wurden jeweils sowohl mit als auch ohne Puffer (Diäthylbarbitursäure, pH-Wert = 7,6) ausgeführt.

5. VERUNREINIGUNGEN MIT FIBRINOLYTISCHEN SUBSTANZEN

Kekwick gibt für seine Methode an, dass das Endprodukt des Fibrinogens frei von Verunreinigungen mit Plasminogen und Plasmin sei. Um das nachprüfen zu können bedienten wir uns der Fibrinplatten-Methode nach Astrup.

Versuchsaufbau

Agar wird 15 Minuten gekocht, dann auf 45 Grad abgekühlt. Drei Teile dieses Agar werden mit einem Teil Fibrinogen versetzt (Rind, Behring) und gemischt. 15 ccm dieser Mischung werden in eine vorher mit 15 E Thrombin ausgestrichenen Platte gebracht und 4 Stunden stehen gelassen. Dann werden in die Agarplatte im Abstand von 1 cm sechs Löcher von 0,6 cm Durchmesser gestanzt. In diese Löcher wird die zu testende Substanz unter Zusatz von Streptokinase gebracht. Die Platten werden dann 24 Stunden bebrühtet. Bei positivem Ausfall des Testes bildet sich um die eingestanzten Löcher ein Hof, aus dessen Grösse auf den Gehalt an fibrinolytischen Verunreinigungen geschlossen werden kann.

6. THROMBOKINASEVERDÜNNUNGSREIHE

Um ein ungefähres Mass für die Wirkungsstärke der Thrombokinese bei Verdünnung zu erhalten, setzten wir eine Verdünnungsreihe mit selbst hergestellter Gehirnthrombokinese an. Wir verwendeten Nabelschnurblut, das im silikonisierten System abgenommen und plättchenfrei abzentrifugiert worden war. Die Thrombokinese wurde von einem bestimmten Ausgangswert schrittweise verdünnt. Als Leerwert liessen wir die Rekalzifizierungszeit parallel laufen.

7. NATIVBLUT-TEG MIT NABELSCHNURBLUT

Da unseres Wissens von den meisten Autoren zur thrombelastographischen Untersuchung meist recalcifiziertes Nabelschnurplasma, nicht aber Nativblut verwendet wird, Beller (1) aber schon 1957 darauf hingewiesen hat, dass für eine genaue Gerinnungsanalyse Nativblut verwendet werden muss, stellten wir diese Untersuchungen an. Sie wurden in der I. Universitätsfrauenklinik ausgeführt und uns in dankenswerter Weise von Herrn Dr. Ludwig überlassen (25).

Die Ergebnisse des Plasma-TEGs sind abhängig von Konzentrationsänderungen des CaCl_2 -Gehaltes und Na-Citrats und Oxalats (1). Unberücksichtigt im Plasma-TEG bleiben bestimmte Faktoren wie Plättchenfaktor 3 (24).

Nach Beller (1) bewirken Streptokinase-Konzentrationen, die zu gering sind,

im TEG eine Fibrinolyse hervorzurufen, eine Verkürzung der Gerinnungszeit. Biggs und McFarlane (2) sind der Auffassung, dass Trypsin in Verbindung mit Serum und Plättchen als Thrombokinase wirkt, wobei Trypsin die entsprechenden Gerinnungsfaktoren aus den Plättchen freisetzt (9). Da mit einem hohen Prozentsatz an Verunreinigungen fibrinolytisch wirkender Substanzen im Nabelschnurblut zu rechnen ist, erscheint es gerade aus diesem Grunde angebracht, im TEG Nativblut und nicht Plasma zu verwenden.

C. VORBEMERKUNGEN

1. FIBRINOGEN

Fibrinogen (Virchow) ist ein langgestrecktes, lösliches (hydrosol), fibrilläres Protein vom Alpha-Keratintyp (17). Als Länge des ellipsoidförmigen Moleküls werden in der Literatur 500-600 Å angegeben (3, 17, 18). Seegers nimmt nach elektronenmikroskopischen Untersuchungen von Hall und Slayter (cit. n. 42) eine Moleküllänge von 475 ± 25 Å an. Das Molekulargewicht beträgt nach neueren Untersuchungen zwischen 340 000 - 350 000 (3, 42). Biochemisch gehört Fibrinogen zu den Euglobulinen und wandert in der Elektrophorese nahe den Gamma-Globulinen. Der isoelektrische Punkt liegt nahe $\text{pH} = 5,5$ (3, 42). Fibrinogen besteht aus neutralen (Gly, Ala, Val, Leu, Isoleu, Cystin, Cystein, Meth, Phenylala, Pro, Ser, Thre, Tyr, Try), sauren (Asparaginsäure, Glutaminsäure) und basischen (Arg, Lys, His) Aminosäuren (3, 31). Bildungsort sind die Leberzellen, vielleicht darüber hinaus auch Zellen des RES (14). Fibrinogen ist gut löslich in physiologischer Kochsalzlösung, schlecht in H_2O .

Fibrinogen ist ein sehr labiler Eiweisskörper, der durch die verschiedenartigsten chemischen Reagentien, durch UV-Licht und Röntgenstrahlen denaturiert werden kann (3, 31, 37). Wichtig für die Denaturierung und die Art der Thrombusbildung erscheint der pH-Wert. Von Ferry und Morrison (8) wird angegeben, dass die Fibrinfestigkeit in Abhängigkeit vom pH-Wert stehe. Dabei schwankt die Fibrinfestigkeit gewissermassen zwischen zwei Extremen. Mit ansteigendem pH-Wert, ansteigender Ionenstärke und ansteigender Temperatur entsteht ein Thrombus, der transparent, elastisch und nicht komprimierbar ist, während abfallender pH-Wert, abfallende Ionenstärke und abfallende Temperatur die

Entstehung eines Thrombus begünstigen, der undurchsichtig, wenig elastisch und komprimierbar ist (3,8).

Köppel (30) diskutiert die Hypothese, dass die H-Ionenkonzentration nicht nur Einfluss auf die Faserdicke der Fibrinfäden und die Konsistenz des entstehenden Thrombus nimmt, sondern auch auf die Geschwindigkeit des Ablaufes der einzelnen Polymerisationsstufen. Danach würde die Polymerisation im sauren Milieu langsamer, im alkalischen schneller ablaufen. Nach Burstein (6) und Beller (1) ist die pH-Wertabhängigkeit im Neugeborenenblut stärker ausgeprägt als im normalen Erwachsenenblut. Das entstehende Fibringerinnsel ist transparenter, starrer und weniger komprimierbar, was darauf hindeuten würde, dass sich Neugeborenen- und Erwachsenen-Fibrinogen hinsichtlich ihres optimalen pH-Wertes unterscheiden. Von Burstein, Künzer und anderen (6,21,43) wird ausserdem und in Zusammenhang damit eine qualitative Verschiedenheit des Neugeborenen-Fibrinogens vom Erwachsenen-Fibrinogen diskutiert.

Die Angaben über die Konzentrationsverhältnisse von Fibrinogen im normalen Erwachsenenblut schwanken zwischen 200 und 600 mg% (32). Was die Konzentration im Nabelschnurblut anbelangt, so können heute Werte als gesichert angenommen werden, die gegenüber der Erwachsenennorm stark erniedrigt sind (1,22,24,36).

Ob diese Herabsetzung der Fibrinogenwerte im Nabelschnurblut auf eine quantitative Mangelbildung der Leber (und des RES) zurückzuführen ist oder ob Fibrinogen sekundär durch andere Ursachen vermindert wird, kann bis heute nicht mit Sicherheit gesagt werden. Burstein (6) nimmt als Ursache eine insuffiziente Leberleistung an. Nach Lasch, Roka und Witte laufen im Gefässsystem Gerinnung und Fibrinogenolyse, Fibrinbildung und Fibrinolyse nebeneinander ab (cit. n. 31). Es besteht also die Möglichkeit, dass im Nabelschnurblut durch eine gesteigerte Fibrinogenolyse ein vermehrter Fibrinogenverbrauch vorliegt, was die niedrige Konzentration an Fibrinogen erklären würde. Auch die Möglichkeit einer gesteigerten Gerinnungsbereitschaft des fetalen Fibrinogens und daraus resultierender verminderter Konzentrationshöhe im Nabelschnurblut durch Hyperkonsumption in vasis wird diskutiert (22). Durch Thrombin wird Fibrinogen in das unlösliche (hydrogel) Fibrin übergeführt, wobei die Peptide A und B abgespalten werden (3,18,31a). Angriffspunkt des Fermentes Thrombin am Substrat Human-Fibrinogen ist dabei die Aminosäure Alanin. Als neues Endglied tritt immer Glycin auf (31). Die entstandenen aktiven Fibrinmonomeren polymerisieren unter geeigneten Bedingungen ($\text{pH} > 4,85 < 10$, Ionenstärke = 0,15) Seit zu Seit (Strukturhomologe Lateralassoziation) oder End zu End (Polare Kettenassoziation) nach Ansicht der meisten Untersucher spontan oder nach Ferry und

Seegers (42) durch Polymeraseaktivität des Thrombin. Doch ist letzte Ansicht stark umstritten (31). Blombäck (45) nimmt an, dass die Abspaltung von Peptid A für eine End zu End Vereinigung und die Abspaltung von Peptid B für eine Seit zu Seit Zusammenlagerung verantwortlich zu machen sei. Nach elektronenmikroskopischen Untersuchungen von Köppel (30) erfolgt im spontan gerinnenden Nativblut zuerst eine polare Kettenassoziation, dann tritt ein Gleichgewichtszustand zwischen Fibrinogen und intermediären Polymeren auf und erst danach erfolgt die strukturehomologe Lateralassoziation.

Durch Plasmin (1) und Trypsin werden Fibrinogen und Fibrin wieder der Lyse zugeführt. Plasmin wird durch bestimmte Aktivatoren aus seiner inaktiven Vorstufe Plasminogen in die fibrinolytisch wirkende Form übergeführt (10, 11, 12). Die durch proteolytische Wirkung von Plasmin entstandenen Abbauprodukte von Fibrinogen und Fibrin besitzen die Eigenschaften von Antipolymerasen, d. h. sie hemmen die Reaktion Thrombin-Fibrinogen und werden deshalb als Antithrombin VI bezeichnet (Kowalski und Niewiarowski nach 12). Ihre Aktivität ist durch eine Thrombinzeitbestimmung zu messen.

2. PROTHROMBIN UND THROMBIN

Prothrombin ist ein Alpha-Globulin, das in der Leber (23) unter dem Einfluss des fettlöslichen Vitamin K gebildet wird. Sein Molekulargewicht wird nach neueren Untersuchungen von Seegers mit 68 900 angegeben (42). Genaue Angaben über die Konzentration an Prothrombin im menschlichen Blut sind mit dem in der Klinik meist angewandten Thromboplastintest (Prothrombinzeit) nicht zu erreichen, da das Prothrombin mit den Faktoren V, VII und X als "Prothrombinkomplex" erfasst wird (1, 24). Ein isolierter Nachweis des Prothrombins gelingt mit Zweiphasenmethoden.

Die Werte für die Prothrombinaktivität im normalen Erwachsenenblut werden mit 70-100 % angegeben (1, 22, 32), während die Werte im Nabelschnurblut erheblich niedriger liegen. Die Angaben der einzelnen Autoren schwanken

-
- (1) Der Name "Fibrinolysin" für das proteolytische Ferment Plasmin erscheint nicht ganz berechtigt, weil die Aktivität dieses Fermentes nicht spezifisch gegen das Substrat Fibrin(ogen) gerichtet ist.

hauptsächlich wohl aufgrund verschiedener Messtechnik, doch dürfen Werte von 20-40 % heute als gut gesichert angenommen werden (1, 22, 25, 26, 29, 30, 33).

Die congenitale Hypoprothrombinämie ist offensichtlich ein Ausdruck für die mangelnde Verwertbarkeit des Vitamin K durch die fetale Leber (33). De Nicola konnte nur bei mehrtägiger Verabreichung von Vitamin K an die Mutter vor der Geburt eine Normalisierung der Prothrombin- und Faktor VII-Werte beim Neugeborenen feststellen (33).

Nach Beller (1) besteht ein direkter Zusammenhang zwischen der Konzentration an Prothrombin im mütterlichen Blut unter der Geburt und der Konzentrationshöhe im Neugeborenenblut.

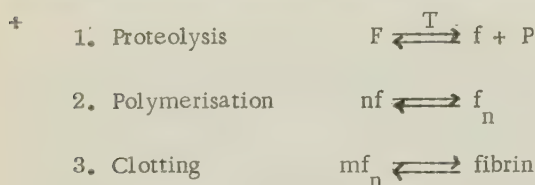
Marx (29) warf die Frage auf, ob nicht im Nabelschnurblut ein besonders aktives (= umwandlungsbereites) Prothrombin vorhanden sein könnte, das durch seine gesteigerte Aktivität den Mangel an Quantität (in manchen Fällen) gewissermaßen auszugleichen vermag. Seegers hat durch seine umfangreichen Untersuchungen gezeigt, dass Prothrombin unter verschiedenen Bedingungen unterschiedliche Aktivität zeigt (42). Beller (1) wendet gegen diese Untersuchungen und ihre daraus folgenden Erklärungsmöglichkeit der Hyperkoagulabilität im Nabelschnurblut ein, dass es unwahrscheinlich ist, dass die Leber des Feten als werdendes Organ ein besonders aktives Prothrombin zu bilden vermag. Man könnte aber annehmen, dass Prothrombin sekundär durch besondere Milieuverhältnisse in seiner Aktivität gesteigert wird.

Thrombin ist ein proteolytisches Ferment, das durch Einwirkung von Thrombokinase, Acceleratoren und Auto- bzw. Co-Autokatalyse aus seiner inaktiven Vorstufe Prothrombin entsteht (42). Seegers gibt als Molekulargewicht des Thrombins (Rinderthrombin) nach Berechnung der Aminosäurezusammensetzung 33 900, nach Messung mit der Ultrazentrifuge (Svedberg) 33 700 an. Scheraga gibt für Human-Thrombin ein Molekulargewicht von 77 000 und einen isoelektrischen Punkt zwischen 4,2-4,5 an (37). Angegriffen und in seiner Wirkung gestört wird Thrombin durch stärkere Säuren und Basen und verschiedene anorganische Reagentien (31). Inaktiviert wird es durch im Blut vorkommende Inhibitoren (Antithrombine).

Thrombin wirkt als Endopeptidase, d.h. es spaltet Peptidgruppen ausserhalb der Endgruppe und ist bindungs- nicht aber substratspezifisch (11). Das bedeutet, dass Thrombin nicht nur Fibrinogen in Fibrinmonomere aufspaltet, sondern an diesem Fibrin auch wieder lytisch wirkt (11, 42, Guest, Schultze und Schmidbauer nach 1). Diese fibrinolytische Wirkung ist aber gegenüber der gerinnungs-

fördernden sehr gering. Seegers und Mitarbeitern gelang es, ein Thrombin (Esterase-Thrombin oder Thrombin E) herzustellen, dessen gerinnungsfördernde Aktivität fast verschwunden ist, wogegen die lytische Komponente stark im Vordergrund steht (42). Neben seiner proteolytischen Wirkung wird dem Thrombin von Ferry (cit. n. 31) und Seegers (42) eine Polymerasefunktion zugesprochen, d.h., dass Thrombin, wie oben kurz erwähnt, auch für die Polymerisation der aktiven Fibrinmonomeren verantwortlich gemacht wird, doch ist diese Ansicht stark umstritten (31).

Nach Blombäck (3) stellt sich die Umwandlung von Fibrinogen in Fibrin unter der enzymatischen Wirkung von Thrombin folgendermassen dar:



Thrombin tritt als Polymerase nicht in Erscheinung, Voraussetzung für die Polymerisation der aktiven Fibrinmonomeren ist aber die proteolytische Abspaltung der Peptide A und B vom Fibrinogenmolekül (37). Der Vorgang ist wie ersichtlich in jeder Phase reversibel.

Schritt 1, die Proteolyse, ist nach Blombäck wiederum in zwei Phasen zu unterteilen:

1. die Abspaltung von Peptid A, was die Polymerisation, 2. die Abspaltung von Peptid B, was die Koagulation zur Folge haben soll (30, 45). Danach ist es also zu erwarten, dass der erste Polymerisationsschritt allein durch die Abspaltung des Peptides A in Gang kommt. Zur Abspaltung des Peptides ist aber Thrombin erforderlich (3, 30, 37, 42, 45). Nach den Untersuchungen von Köppel (30) erscheinen im spontan gerinnenden Nativblut intermediäre Fibrinogenketten bereits, "bevor mit der Anwesenheit einer im klassischen Sinne wirksamen Thrombinaktivität zu rechnen ist", d.h. der erste Polymerisationsschritt geschieht bevor zu erwarten ist, dass Thrombin aus Prothrombin freigesetzt ist. Eine Erklärung

+ f = aktive Fibrinmonomere. P = Peptide. n = variable Zahl
 f_n = intermediäres Zwischenprodukt der Polymerisation
m = grosse Anzahl. T = Thrombin.

rung dieser Diskrepanz könnte das Auftreten eines proteolytischen Enzyms bieten, das nicht mit der klassischen Thrombinaktivität identisch ist. Die Wirkung dieser möglicherweise auftretenden Prothrombinabkömmlinge, die in den letzten Jahren Objekt eingehender Untersuchungen der Arbeitsgruppe um Seegers waren (42), ist noch nicht genügend bekannt. Der Beginn der polaren Kettenassoziation der Fibrinfäden ist beschleunigt, wenn sie in Kontakt mit Thrombozyten stehen, weshalb zu erwarten ist, dass die Thrombozyten Einfluss auf den Ablauf der Polymerisation nehmen.

Nach Köppel (30) könnte es sich dabei um die Wirkung von Thrombozytenfaktor 1 handeln, der die Umwandlung von Prothrombin in seine Abkömmlinge beschleunigt.

3. ANDERE FAKTOREN DER GERINNUNG

Nach W. Künzer, der seine Untersuchungen an unreifen Neugeborenen machte, sind folgende Faktoren im Nabelschnurblut erniedrigt (22):

Fibrinogen	120 mg%
Prothrombinaktivität	18-20 ‰
Faktor V	60 ‰
Faktor VII	35-40 ‰
Faktor VIII	55-60 ‰
Faktor IX	25-30 ‰
Faktor X	45 ‰

während die Inhibitoren der Gerinnung nach Künzer im Nabelschnurblut zum Teil normal, zum Teil erhöht sind.

Die Angaben der anderen Autoren sind unterschiedlich. Als gesichert kann ein Mangel an Faktor VII (Proconvertin) gelten (1, 22, 25, 26, 33). Faktor I (Fibrinogen) ist in jedem Fall im Nabelschnurblut vermindert. Die Werte von Faktor V werden von den meisten Autoren als normal oder gering erniedrigt angesehen (1, 25, 26), wobei Werte von 80 ‰ der Erwachsenenorm als noch innerhalb der unteren Grenze der physiologischen Streubreite gelten können (24). Aus den Konzentrationsverhältnissen von Prothrombin und Faktor VII geht die enge Verbindung der beiden Faktoren für den Gerinnungsvorgang hervor. Die übrigen Faktoren der Gerinnung entsprechen im Neugeborenenblut ungefähr der Norm oder be-

wegen sich an deren unterer Grenze.

Über die Faktoren XI und XII (PTA-Faktor und Hageman-Faktor) sind uns zur Zeit keine Untersuchungen bekannt, obwohl gerade ihre Aktivität von besonderer Wichtigkeit ist, weil sie für die Aktivierung der Blutthrombokinasen verantwortlich sind (34).

Die Substanz, die die testabhängige, teilweise Hyperkoagulabilität im Nabelschnurblut bewirkt, muss von starker gerinnungsfördernder Tendenz sein, was auf die Thrombokinasen zutreffen würde (1, eigene Untersuchungen).

Über die Aktivität der Antithrombine im Neugeborenenblut widersprechen sich die Angaben der einzelnen Autoren erheblich. Meist werden die Konzentrationen als innerhalb der Norm liegend gefunden (1, 25, 26). Als Antithrombin I wirkt die thrombinadsorbierende Fähigkeit des Fibrinogens. Das schnell wirkende Heparin-Antithrombin (Antithrombin II) ist nach Beller (1) im Nabelschnurblut erniedrigt, nach Künzer (22) erhöht. Genaue Aussagen lassen sich in ähnlicher Weise nicht über die Aktivität von Progressiv-Antithrombin (Antithrombin III) machen. Beller fand, dass Antithrombin II im Nabelschnurblut zwar erniedrigt, im Fersenblut des Neugeborenen aber normal ist. Er spricht von einer Komponente, die den Thrombininhibitor im Nabelschnurblut vermindert (1). Es wäre, um die Ergebnisse der einzelnen Autoren auswerten zu können, wichtig zu wissen, mit welchen Methoden sie gearbeitet haben. Mit der Antithrombinbestimmung nach Quick werden Antithrombin I und II im Antithrombinkomplex erfasst und ihre Aktivität durch eine Thrombinzeitbestimmung gemessen.

Thrombokinasen

Thrombokinasen entstehen im Gewebe als Gewebsthrombokinasen und im Blut als Reaktionsprodukt aus Plättchenfaktor 3 mit den Faktoren IV, VIII, IX, X, XI und XII (34). Thrombokinasen gelten als artspezifischer Aktivator von Thrombin. Die Blutthrombokinasen benötigen zu ihrer Aktivierung mehrere Faktoren, zu deren Formation die Faktoren XI und XII nach Kontakt mit einer benetzbaren Oberfläche die Initialzündung darstellen (34).

4. MÖGLICHE EINFLÜSSE AUF THROMBINZEIT UND THROMBINVERDÜNNUNGSREIHE

Da wir nicht wussten, ob wir mit den von uns angesetzten Versuchsreihen ein optimales Milieu für die jeweils verglichenen Fibrinogenlösungen geschaffen hatten, untersuchten wir die gleichen Chargen parallel unter verschiedenen Bedingungen. Die möglichen Einflüsse, die für die Thrombinzeitbestimmung von Bedeutung sein können, sollen kurz aufgezählt werden:

1. Konzentration an Fibrinogen
2. Salzmilieu
3. pH-Wert
4. Thrombinkonzentration
5. Relation zwischen der Thrombinkonzentration und der Fibrinogenkonzentration
6. Thromboplastische Substanzen im Plasma
7. Hemmstoffe des Thrombin und Co-Faktoren der Hemmstoffe im Plasma
8. Fibrinolyse und Fibrinogenolyse
9. Qualitative Fibrinogenveränderungen
 - a) Alterungsdenaturierungen
 - b) Fällungs- und Trocknungsdenaturierungen
10. Unterschiedliche Affinität von Fetal- und Erwachsenen-Fibrinogen zum verwendeten Rinder-Thrombin (Behring-Werk).
11. Einflüsse der Temperatur
12. Qualitative Unterschiede der verglichenen Fibrinogene.

Um eine annähernd optimale Konzentration des Fibrinogens erreichen zu können, steigerten wir die Konzentration von Versuch zu Versuch jeweils um 50 mg%, ausgehend von einem Anfangswert von 50 mg% bis zu einem Endwert von 500 mg%.

Das Salzmilieu war bei den verglichenen Fibrinogenlösungen das gleiche, weil sie parallel nebeneinander den Entwicklungsgang der Reindarstellung durchlaufen hatten und am Ende in die gleiche Menge NaCl-Lösung aufgenommen worden waren.

Wir stellten Thrombinverdünnungsreihen jeweils mit und ohne Puffer an (Diäthylbarbitursäure pH = 7,6). Die optimale Thrombinkonzentration hätte durch die schrittweise Verdünnung des Thrombins erfasst werden müssen. Das gleiche gilt auch für die Relation zwischen Thrombinkonzentration und Fibrinogenkonzentration.

Die Verunreinigung mit thromboplastischen Substanzen muss diskutiert werden. Sie wurde von uns aber nicht untersucht.

Auch die Möglichkeit von Hemmstoffen des Thrombins im Plasma oder das Vorhandensein einer Fibrinolyse untersuchten wir nicht.

Dazu muss gesagt werden, dass wir hauptsächlich Wert legten auf die Untersuchungen mit hochgereinigtem Fibrinogen, in dem Verunreinigungen mit Thromboplastin und Thrombinhemmstoffen unwahrscheinlich erschienen, da die Chargen den ganzen Entwicklungsgang der Reindarstellung nach Kekwick (18) durchlaufen hatten und diese Substanzen sicherlich ausgefällt oder zerstört worden waren. Mögliche Verunreinigungen der gereinigten Fibrinogenlösungen mit fibrinolytisch oder besser fibrinogenolytisch wirkenden Substanzen untersuchten wir mit der Fibrinplattenmethode nach Astrup.

Grosse Wichtigkeit muss den möglichen qualitativen Veränderungen des Fibrinogens zugesprochen werden. Die Labilität des Fibrinogen-Moleküls ist bekannt (8). Da Einflüsse des pH-Wertes sich auf die verglichenen Fibrinogenlösungen vom Neugeborenen und vom Erwachsenen nur auswirken können, wenn sich beide Fibrinogene hierin hinsichtlich ihres Optimums unterscheiden, was nachzuprüfen uns nicht möglich war, kamen für uns nur Denaturierungen in Betracht, die durch die Alterung, die Fällung und die Trocknung entstanden sein könnten. Auch Temperatureinflüsse können eine Rolle spielen (8). Immunologisch-chemische Veränderungen am Fibrinogen-Molekül nachprüfen zu können, lag zunächst ausserhalb unserer Möglichkeiten. Wichtig erschien uns eine Veränderung in der Gerinnungsfähigkeit des Fibrinogens, was wir durch wiederholte Thrombinzeitbestimmungen der Chargen im Plasma sofort nach der Abnahme nach 4-tägiger Lagerung unter verschiedenen Bedingungen (Plasma) und nach der Reindarstellung des Fibrinogens nachprüften. Auch mit dem gereinigten Fibrinogen, das nicht sofort weiterverwendet wurde, sondern für Tage, teilweise für Wochen, bei 18 Grad in der Tiefkühltruhe gelagert wurde, wurden wiederholt Thrombinzeitbestimmungen angestellt, um ein etwaiges Nachlassen der Gerinnungsfähigkeit feststellen zu können.

Als Ergebnis der Thrombinzeiten, bei den sofort nach der Abnahme untersuchten Plasmen aus Nabelschnurblut und Erwachsenenblut kann gesagt werden, dass wir nicht regelmässig, ja sogar nur in seltenen Fällen, eine Hyperkoagulabilität des Neugeborenen-Plasmas gegenüber dem Erwachsenen-Plasma feststellen konnten. Von den unter verschiedenen Bedingungen für 4 Tage gelagerten Plasmen (Zimmertemperatur, Kühlschrank und Tiefkühltruhe) hatten die beiden gekühlten Chargen nur wenig in ihrer Gerinnungsfähigkeit gelitten - die Thrombinzeitwerte verlängerten sich im Durchschnitt um 2 Sekunden - während das

bei Zimmertemperatur aufbewahrte Plasma eine erhebliche Verlängerung der Thrombinzeit erkennen liess.

Die starke Abhängigkeit der Gerinnungsfähigkeit von Temperatur und Temperaturschwankungen liess sich auch bei den gereinigten Fibrinogenlösungen erkennen. Nach der Reindarstellung des Fibrinogens wurden die Lösungen auf gleiche Konzentration eingestellt (nach Kjeldahl) und einer Thrombinzeitbestimmung unterzogen. Während der oft Tage und Wochen dauernden Lagerung des Fibrinogens in der Tiefkühltruhe wurden wiederholt Thrombinzeitbestimmungen durchgeführt. Die Thrombinzeiten des Neugeborenen-Fibrinogens waren stets gegenüber denen des Erwachsenen-Fibrinogens verlängert, auch litt das Fetalfibrinogen stärker unter der Lagerung, hauptsächlich wohl unter dem wiederholten Auftauen und Einfrieren. Alterungs- und Trocknungsdenaturierungen spielten offensichtlich nur eine untergeordnete Rolle, weil die Fibrinogenlösungen, die über längere Zeit eingefroren und in der Zwischenzeit nicht aufgetaut worden waren, keine oder nur geringgradige Veränderungen ihrer Gerinnungsfähigkeit zeigten.

Ob die beiden verglichenen Fibrinogene unterschiedlich auf das verwendete Test-Thrombin vom Rind (Behring-Werk) reagierten und auf diese Weise eine etwaige Differenz der Thrombinzeiten zu erklären ist, können wir nicht sagen. Die Möglichkeit muss immerhin diskutiert werden, da die Verwendung von Rinder-Thrombin den Test noch weiter von den physiologischen Zuständen in vivo entfernt.

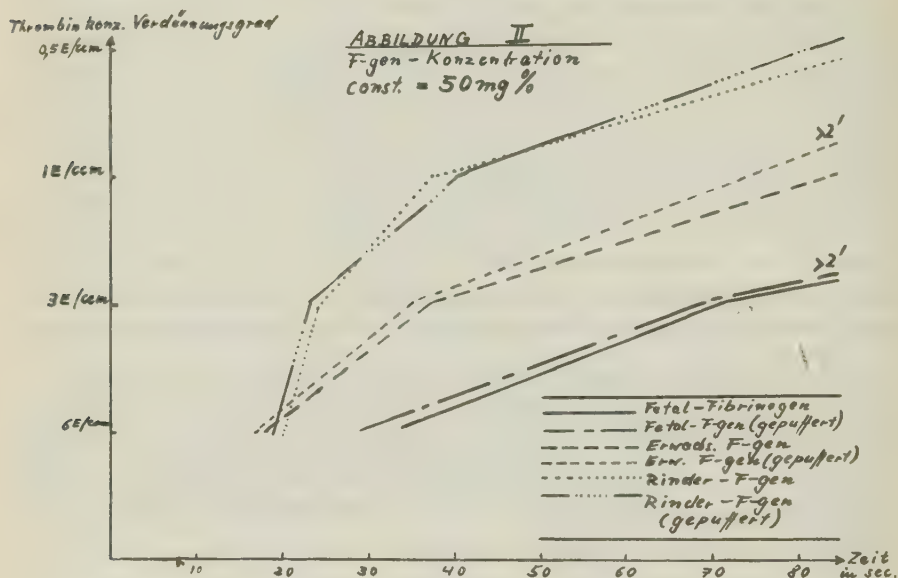
D. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

1. THROMBINVERDÜNNUNGSREIHEN

Thrombinzeiten bei schrittweiser Verdünnung des Thrombins von einem Ausgangswert von 6 E/ccm - 0,5 E/ccm. Wichtigstes Unterscheidungsmerkmal für die einzelnen Thrombinverdünnungsreihen ist ihre verschiedene Konzentration an Fibrinogen (siehe graphische Darstellungen). Wir begannen mit 50 mg% Fibrinogen-Konzentration und steigerten die Konzentration bei jeder Versuchsanordnung jeweils um 50 mg%. Die Versuche wurden parallel mit und ohne Puffer (Diäthylbarbitursäure 1/10 vol. pH = 7,6) ausgeführt. Die genaue Vorlage ist stets angegeben.

1. Vorlage

Citrat 3,8 ‰, 1 ad 10 Fibrinogen-Konzentration: 50 mg‰.



Ergebnis: Das Neugeborenen-Fibrinogen zeigt mit Abstand den geringsten Gerinnungseffekt. Die Pufferung wirkt sich bei allen Chargen ungefähr im gleichen Masse im Sinne einer Verkürzung der Thrombinzeit aus.

2. Vorlage

Citrat 3,8 %, 1 ad 10 Fibrinogen-Konzentration: 100 mg%

Thrombin-Konz. Verdünnungsgrad

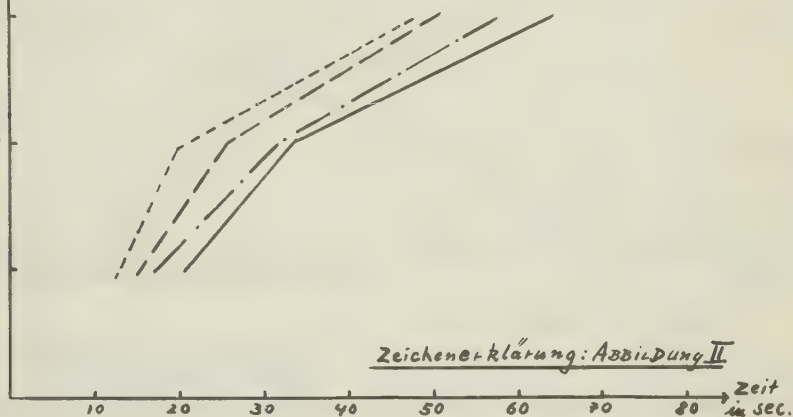
0,5 E/ccm

1 E/ccm

3 E/ccm

6 E/ccm

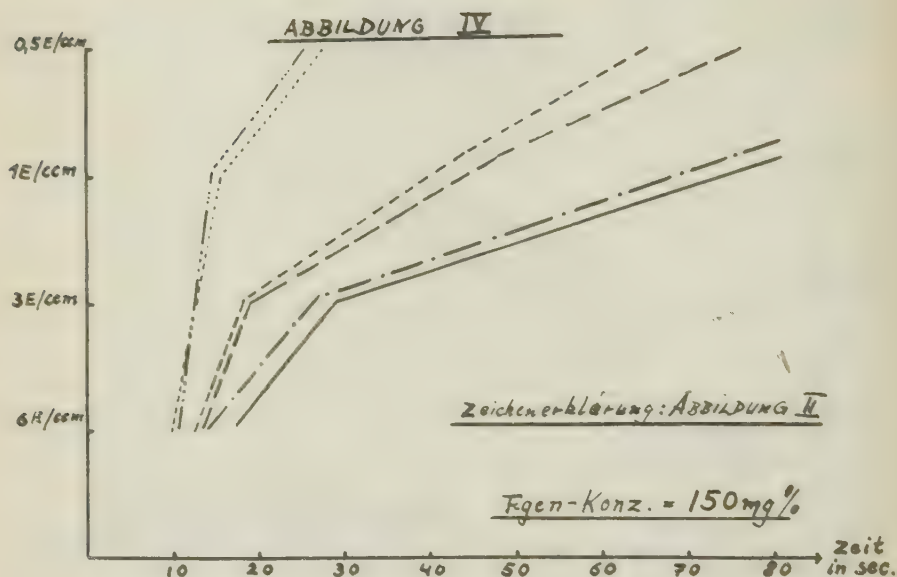
ABBILDUNG III
F-gen-Konzentration
const. = 100 mg %



Ergebnis: Keine erhöhte Gerinnungstendenz des Nabelschnur-Fibrinogens. Die Thrombinzeiten sind verkürzt gegenüber Abbildung 1, was durch die erhöhte Fibrinogen-Konzentration zu erklären ist. Stabilisierung des pH-Wertes ergibt wiederum Verkürzung der Thrombinzeiten.

3. Vorlage

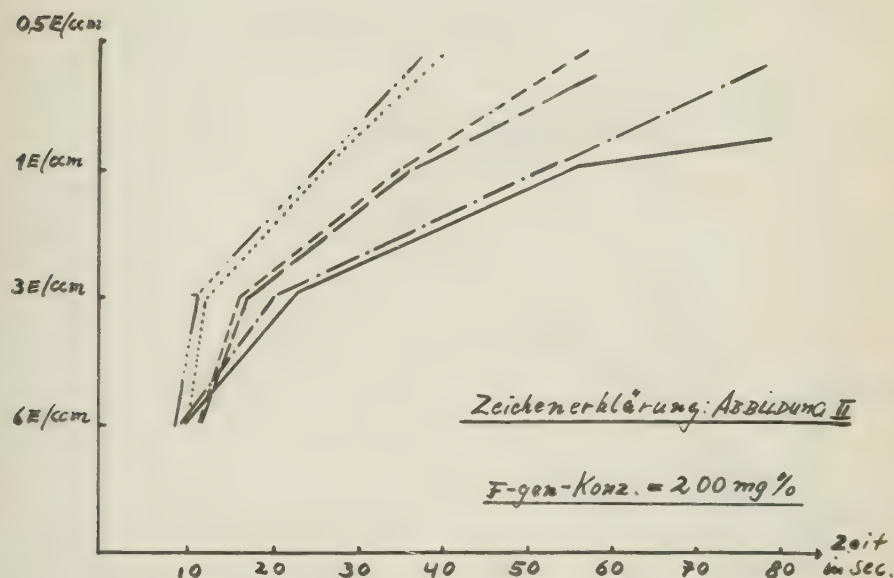
Citrat 3,8 ‰, 1 ad 10 Fibrinogen-Konzentration: 150 mg%



Ergebnis: Keine erhöhte Gerinnungstendenz des Nabelschnur-Fibrinogens. Vor allem fällt nach den bisherigen Darstellungen auf, dass die Thrombinsensibilität des Neugeborenen-Fibrinogens gegenüber der der beiden verglichenen Fibrinogenarten (Erwachsenen und Rind) deutlich verschlechtert ist. Die Thrombinzeiten des Nabelschnur-Fibrinogens verlängern sich bei Verminderung der Thrombin-Konzentration nicht nur absolut -was ohne weiteres einzusehen ist- sondern auch relativ zu den Thrombinzeiten der beiden verglichenen Fibrinogene.

4. Vorlage

Citrat 3,8 %, 1 ad 10 Fibrinogen-Konzentration: 200 mg%

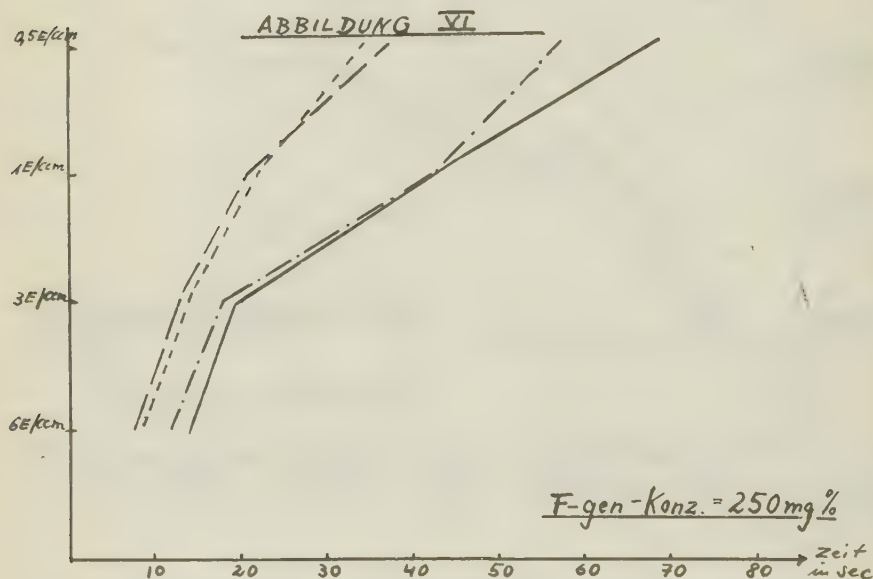


Ergebnis: Das Neugeborenen-Fibrinogen zeigt bei hoher Thrombindosierung (6 E/ccm) zuerst eine höhere Gerinnungstendenz als das Erwachsenen-Fibrinogen, fällt dann aber wieder ab.

5. Vorlage

Citrat 0,5 ccm 7,6 % + 0,5 ccm Trasylol 250 E/Blut ad 10

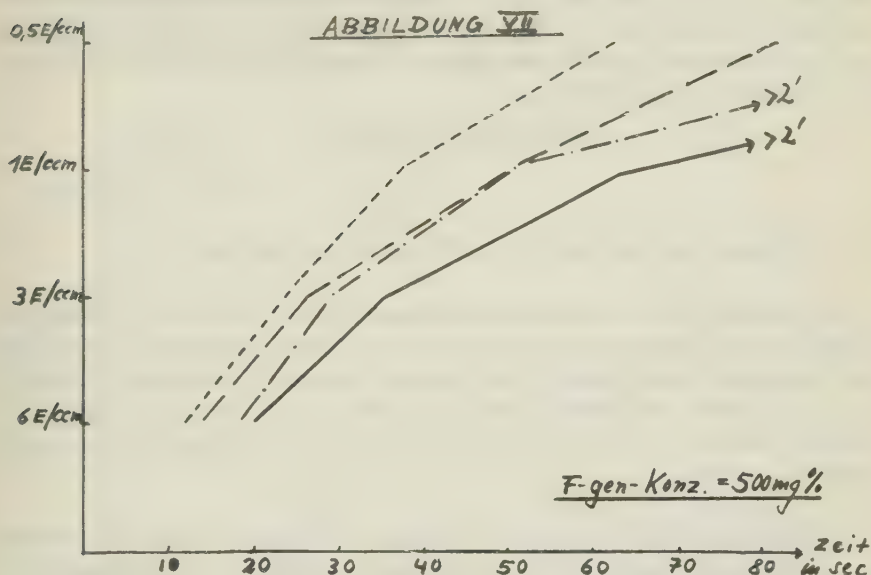
Fibrinogen-Konzentration: 250 mg%



Ergebnis: Die Pufferung wirkt sich beim Erwachsenen-Fibrinogen in den hohen Thrombinkonzentrationsbereichen verzögernd auf die Gerinnungsbereitschaft aus. Die Thrombinzeiten waren bei beiden Chargen die kürzesten, die wir überhaupt erreichen konnten. Bei weiterer Erhöhung der Fibrinogen-Konzentration wurden die Thrombinzeiten wieder länger. Das sei am Beispiel der letzten Kurve gezeigt, bei der wir mit einer Fibrinogen-Konzentration von 500 mg% arbeiteten. In wieweit die Verwendung des Fibrinolyseinhibitors Trasylol bei der Blutentnahme unsere Ergebnisse beeinflusst hat, kann aus den Ergebnissen selbst nicht abgeleitet werden. Es muss erwähnt werden, dass beide Chargen den Gang der Reindarstellung nach Kekwick durchlaufen hatten und wir nach der Reindarstellung diejenigen Fibrinogen-Chargen, in denen sich mit der Fibrinplattenmethode nach Astrup Spuren von fibrinolytisch wirksamen Substanzen nachweisen ließen, nicht bei den Thrombinverdünnungsreihen verwendet haben.

5. Vorlage

Citrat 3,8 %, 1 ad 10 Fibrinogen-Konzentration: 500 mg%



Ergebnis: Die Verlängerung der Thrombinzeiten bei starker Erhöhung der Thrombin-Konzentration findet ihre Erklärung vielleicht dadurch, dass sich die Fibrinogen-Moleküle quasi gegenseitig im Wege stehen, der Beginn der Gerinnung zwar beschleunigt, der weitere Ablauf aber verzögert ist. Eine thrombelastographische Untersuchung könnte hier näheren Aufschluss geben. Um einen möglichen Fehler bei der Untersuchung auszuschliessen, wiederholten wir das Experiment noch zweimal, erhielten aber annähernd die gleichen Resultate.

Ergebnisse der Thrombinverdünnungsreihen

Wir können anhand unserer Untersuchungen das Vorliegen eines Neugeborenen-Fibrinogens mit erhöhter Gerinnungsbereitschaft und Thrombinsensibilität nicht belegen. Aus den Ergebnissen unserer Untersuchungen ist eher das Gegenteil abzuleiten. Die Pufferung wirkt sich bei allen Testen im Sinne einer Verkürzung der Thrombinzeiten beider Fibrinogene auch des bei manchen Testen noch mitlaufenden Rinder-Fibrinogens aus.

2. BLUTABNAHME MIT UND OHNE TRASYLOL IN DER VORLAGE

In der folgenden Thrombinverdünnungskurve (siehe Seite 31) sind die Thrombinzeiten von gereinigten Fibrinogenlösungen aus Plasmen dargestellt, die einmal mit und einmal ohne Trasylol in der Vorlage abgenommen wurden. Beide Blutvolumina wurden plättchenfrei zentrifugiert und danach einen Tag im Kühlschrank gelagert (+ 4 Grad Celsius), dann wurde mit der Reindarstellung des Fibrinogens begonnen.

Bei der Auswertung der Ergebnisse der letzten Abbildung ist folgendes zu bedenken: die Plasmen hatten nach der Abnahme mit Trasylol in der Vorlage den ganzen Entwicklungsgang der Reindarstellung des Fibrinogens durchlaufen. Kekwick (18) gibt für seine Methode an, dass das Endprodukt des Fibrinogens frei von fibrinolytisch wirksamen Substanzen sei. Wenn also Unterschiede in den Thrombinzeiten der Plasmen, die mit Trasylol und deren die ohne Trasylol abgenommen worden waren, später in den gereinigten Fibrinogenlösungen auftraten, so konnte das nicht an Verunreinigungen mit fibrinolytisch wirksamen Substanzen liegen. Es waren in diesen Fibrinogenlösungen auch keine Profibrinolysinverunreinigungen nachzuweisen - wir haben das nachgeprüft. Es besteht aber die Möglichkeit, dass vor Zugabe des Trypsinaktivators Trasylol bereits durch Plasmin oder Trypsin abgebaute Fibrinogen- und Fibrinprodukte vorgelegen haben und in den Entwicklungsgang der Reindarstellung mit eingegangen sind. Gerinnungsfähiges Fibrinogen und Abbauprodukte dieser Art können durch die Eiweissuntersuchung nach Kjeldahl nicht unterschieden werden. Wir können auch nicht sagen, ob solche Abbauprodukte während der Reindarstellung des Fibrinogens mit Sicherheit ausgefällt werden. Liegen derartige Fibrinogenabbauprodukte, die durch die Wirkung von Plasmin und Trypsin entstanden sind, in den gereinigten Fibrinogenlösungen vor, dann ist mit Sicherheit ein Einfluss auf die

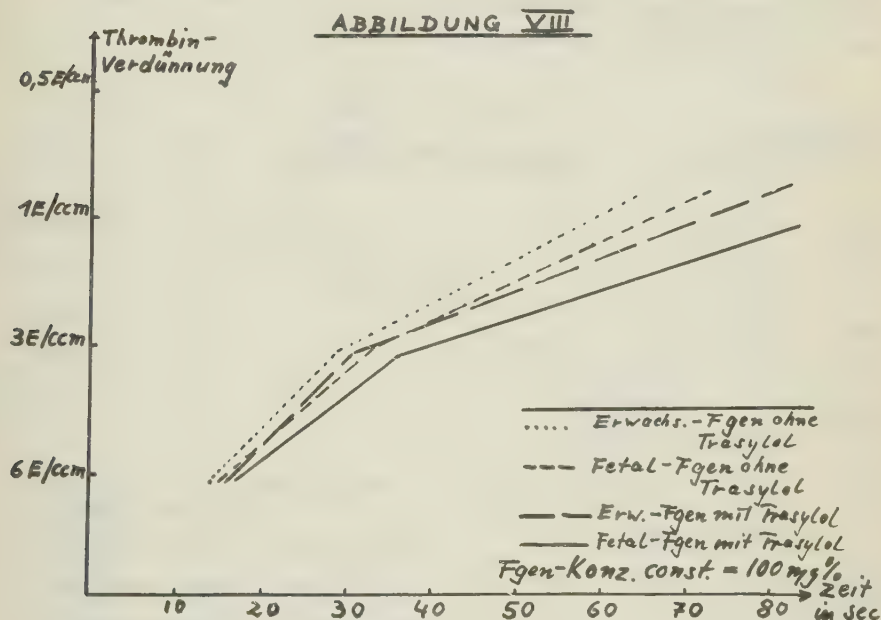
Vorlage

a) Citrat 3,8 %, 1 ad 10

b) 0,5 Citrat 7,6 % + 0,5 Trasylol 250 E, 1 ad 10

Fibrinogen-Konzentration: 100 mg%

schrittweise Verdünnung der Thrombin-Konzentration.



Thrombinzeiten zu erwarten, denn sie wirken als Antithrombin VI (12,31a) und nehmen direkten Einfluss auf die Reaktion Thrombin-Fibrinogen. Die Thrombinzeiten werden also verlängert.

Die Thrombinzeiten des Fibrinogens aus den Plasmen ohne Trasylol in der Vorlage sind verkürzt gegenüber den Vergleichschargen mit Trasylol. Ob das auf die obengenannte Erklärungsmöglichkeit zurückzuführen ist, können wir nicht sagen. Die Gerinnungstendenz des Neugeborenen-Fibrinogens ist wiederum schlechter als die des Erwachsenen-Fibrinogens.

3. THROMBINKURVE BEI SCHRITTWEISER VERDÜNNUNG DES FIBRINOGENS MIT AQUA DEST.

Vorlage

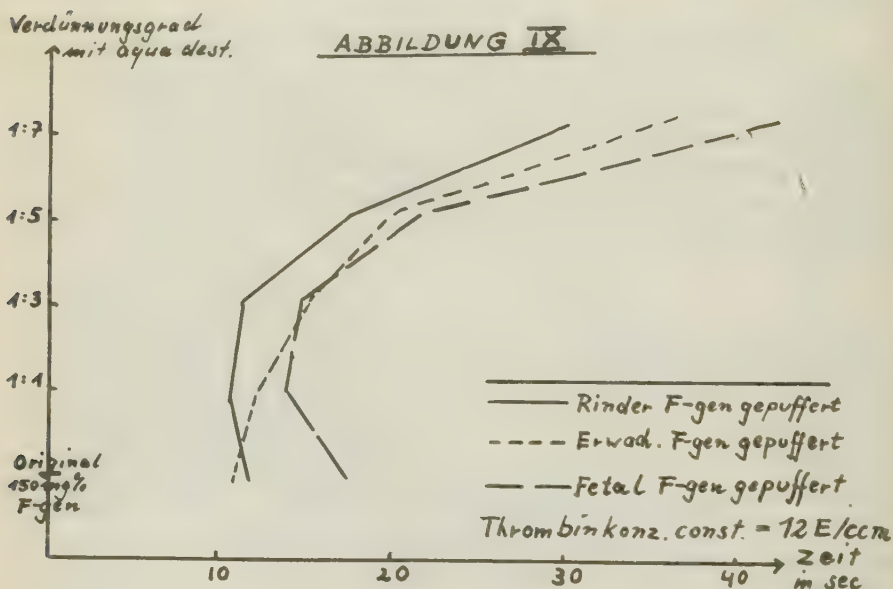
Citrat 3,8 %, 1 ad 5

Ausgangs-Fibrinogenkonzentration (Original) 150 mg% Thrombinkonzentra

Thrombinkonzentration (konst.) 12 E/ccm

1/10 vol. Puffer (Diäthylbarbitursäure pH 7,6)

schrittweise Verdünnung mit aqua dest.



4. THROMBOPLASTINZEIT BEI SCHRITTWEISER VERDÜNNUNG DER (GEHIRN-) THROMBOKINASE MIT Na-Cl-LÖSUNG

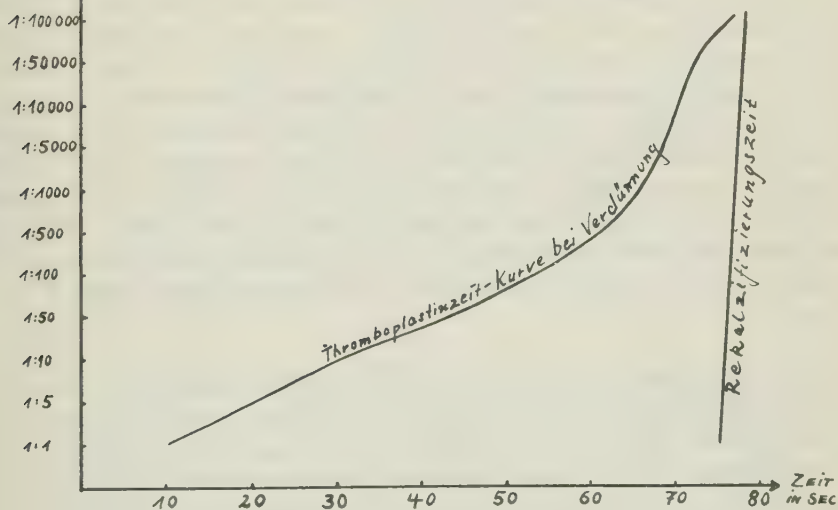
Ansatz: 200 mg selbst hergestellter Gehirnthrombokinase auf 5 ccm physiologischer Kochsalzlösung. 20 Minuten bei 50 Grad erhitzen.

Neugeborenenplasma (Nabelschnurplasma) Citrat: 1 : 10

Bei + 4 Grad im Kühlschrank aufbewahrt

ABBILDUNG X

Thrombokinase verdünnungs-
grad mit physiol. NaCl-Lös.



Die Thrombokinase zeigt auch noch in den hohen Verdünnungsbereichen eine deutliche Fähigkeit, gerinnungsfördernd zu wirken. Die als Leerwert parallel laufende Rekalkifizierungszeit zeigt deutlich die Hyperkoagulabilität im Nabelschnurblut an. Ihre Werte bewegen sich um 76 sec. (Normwerte: 90-105 sec.)

5. UNTERSUCHUNGEN MIT DEM TEG

Vorbemerkungen

Hartert gibt für das von ihm entwickelte Thrombelastogramm folgende Unterscheidungsmerkmale an:

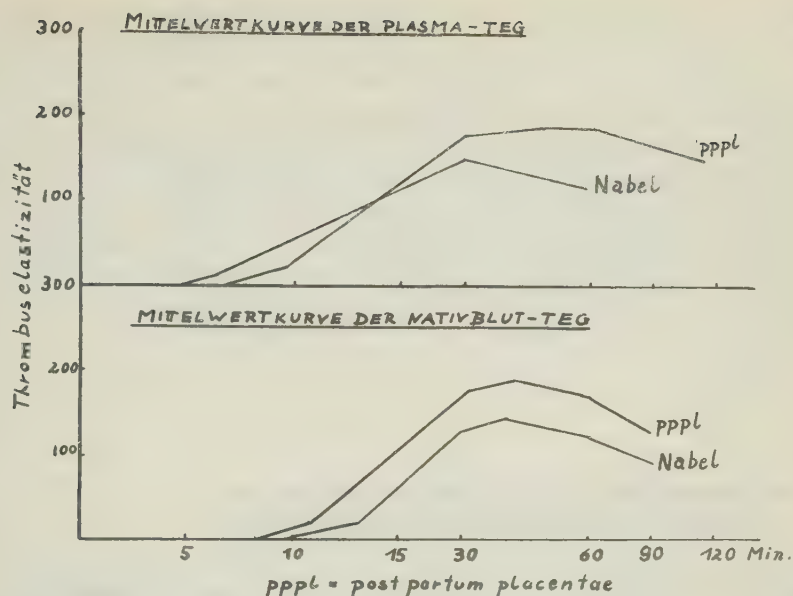
Reaktionszeit ist die Zeit von der Blutentnahme bzw. der Recalcifizierung bis zur ersten nachweisbaren Viskositätszunahme (Differenz der beiden Kurvenschenkel = 1 mm) = r . Thrombusbildungszeit, in welcher die zunehmende Schere-elastizität, gemessen an der Abweichung der beiden Kurvenschenkel, von 1 mm auf 20 mm ansteigt = k_1 .

Die maximale Thrombusfestigkeit gibt die Grösse der maximalen Fibrinelastizität, dem Viskositätsoptimum an und ist gekennzeichnet durch die maximale Amplitude (mE) der TEG-Kurve (32). Beller, Fischer und Della Santa u.a. (cit. nach 1) haben noch verschiedene andere Werte eingeführt, die auszumessen aber für unsere Untersuchungen nicht von besonderer Wichtigkeit schienen. Wichtig für unsere Aussagen waren Reaktionszeit = r (sie muss bei einer Hyperkoagulabilität verkürzt sein) und die maximale Thrombuselastizität. Störungen der ersten Phase der Gerinnung, sowie isolierter Mangel an Faktor V und VII werden vom TEG nicht erfasst. Thrombusaufbaustörungen mit verminderter Festigkeit des Gerinnsels, bedingt zum Beispiel durch congenitalen Fibrinogenmangel oder Fibrinogendenaturierungs- bzw. Fibrino- oder Fibrinogenolyse, finden ihren Ausdruck im TEG (1).

Der Mangel des Neugeborenen- und Nabelschnurblutes an Fibrinogen müsste sich also im TEG in der Weise ausdrücken, dass die maximale Thrombuselastizität gegenüber den normalen Werten verringert wäre, d.h., die maximale Amplitude der TEG-Kurve nicht der Höhe der Norm entspräche. Tatsächlich ist das im Nabelschnurblut der Fall. Die Thrombuselastizität ist geringer als im normalen Erwachsenen-TEG. Der Nachweis einer Hyperkoagulabilität, den Beller u.a. mit Nativnabelschnurblut infolge einer Verkürzung der Reaktionszeit (r) führen konnten, gelang uns nicht in so auffälliger Weise.

Untersuchungen

Die TEG-Untersuchungen wurden in der I. Universitätsfrauenklinik München ausgeführt und uns in dankenswerter Weise von Herrn Dr. H. Ludwig überlassen. Dargestellt sind die vergleichenden Plasma- und Nativblut-Thrombelastogramme aus Nabelschnurblut, aus mütterlichem Blut unter der Geburt und normalem Erwachsenenblut (siehe Abbildung XI).



Messwerte (nach 25)

		r	k ₁	m _E	m _E erreicht nach
Mutter pppl	Plasma	6' 57''	2' 43''	185	47'
	Nativblut	7' 59''	2' 55''	188	43'
Nabelschnur	Plasma	4' 47''	2' 33''	153	30'
	Nativblut	9' 7''	4' 10''	145	39'
Normbereich		9' - 14'	5' -	90 -	--
f. Erwachsene			7 1/2'	180	

Ein Vergleich von Nativblut und Plasma-TEG mit Nabelschnurblut ergibt eine deutliche Hyperkoagulabilität der Plasma-TEG-Fälle gegenüber den Fällen, in denen mit Nabelschnurnativblut gearbeitet wurde. Auch gegenüber den Plasma-TEG-Untersuchungen des mütterlichen Blutes unter der Geburt ist der Beginn der

Gerinnung im Nabelschnurplasma-TEG deutlich beschleunigt, d.h. der Wert r ist in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle deutlich verkürzt. Die Mittelwertskurve im Nativblut-TEG dagegen lässt erkennen, dass das mütterliche Blut post partum placentae kürzere Gerinnungszeiten aufweist als das Nabelschnurblut. Allgemein ist eine Verlängerung der Zeiten bis zum Beginn der Gerinnung im Nativblut-TEG gegenüber dem Plasma-TEG zu bemerken, die sich besonders stark beim Nabelschnurblut auswirkt, so dass der Wert r sich fast in den Bereich der normalen Erwachsenennorm verlängert. Von einer generellen Übergerinnbarkeit des nativen Nabelschnurblutes kann somit im Nativblut-TEG nurmehr mit Vorsicht gesprochen werden.

6. VERUNREINIGUNGEN DES KEKWICK-FIBRINOGENS MIT FIBRINOLYTISCH WIRKENDEN SUBSTANZEN

Entgegen der Behauptung von Kekwick (18), das Endprodukt des gereinigten Fibrinogens sei frei von Verunreinigungen mit Plasmin und Plasminogen, konnten wir in einigen Chargen des von uns hergestellten Fibrinogens Spuren von fibrinolytisch wirksamen Substanzen feststellen. Diese Chargen gebrauchten wir nicht in den weiteren Untersuchungen, um unsere Ergebnisse, die ja von der Qualität des gereinigten Fibrinogens allein abhängen sollten, nicht zu beeinflussen. Bei den mit fibrinolytischen Substanzen verunreinigten Fibrinogenlösungen konnten wir feststellen, dass es hauptsächlich die Neugeborenen-Fibrinogenlösungen waren, die im Fibrinplattentest nach Aktivierung mit Streptokinase eine Verunreinigung mit Profibrinolysin erkennen liessen. Diese Fibrinogenlösungen wiesen auch vor der Reindarstellung im Plasma längere Thrombinzeiten auf als die Plasmen, in denen wir nach der Reindarstellung keine fibrinolytischen Verunreinigungen feststellen konnten. Die Erklärung für die Verlängerung der Thrombinzeit in diesen Plasmen dürfte in der Entstehung von durch Plasmin bedingten Abbauprodukten des Fibrinogens und deren besprochener Antithrombin VI-Aktivität zu suchen sein.

7. ZUSAMMENFASSUNG DER ERGEBNISSE UND DISKUSSION DER HYPERKOAGULABILITÄT

Nach einer kurzen Vorbemerkung über die Konzentrationsverhältnisse der Gerinnungsfaktoren und Inhibitoren im Nabelschnurblut und im normalen Erwachsenenblut wurden die möglichen Einflüsse auf die Thrombinzeit und die Thrombinverdünnungsreihe kurz besprochen. Thrombinverdünnungsreihen bei schrittweiser Verdünnung des Thrombins und von Versuch zu Versuch gesteigerter Fibrinogenkonzentration wurden dargelegt. Eine Gegenüberstellung der Vergleichswerte aus TEG-Untersuchungen mit Nativblut und Plasma der Mutter sub partu und vom Neugeborenen wurde unternommen. Die gerinnungsfördernde Tendenz der Thrombokinasen wurde anhand einer Verdünnungskurve untersucht. Eine mögliche Verunreinigung des Kekwick-Fibrinogens mit fibrinolytischen Substanzen wurde nachgeprüft.

Wir können mit den von uns angestellten Thrombinverdünnungsreihen keine Übergerinnbarkeit bzw. bessere Gerinnungsfähigkeit des Neugeborenen-Fibrinogens gegenüber dem normalen Erwachsenen-Fibrinogen feststellen. Die Untersuchungen deuten im Gegenteil eher auf eine verringerte Gerinnungsfähigkeit des gereinigten Fetal-Fibrinogens hin. Eine erhöhte Thrombinsensibilität des Nabelschnur-Fibrinogens (22) hätte sich vor allem in den höheren Verdünnungsbereichen des Thrombins zeigen müssen. Das Erwachsenen-Fibrinogen zeigt in allen Phasen der Verdünnungsreihe eine höhere Affinität zum Thrombin, die sich mit dem Grad der Verdünnung gegenüber dem Nabelschnur-Fibrinogen relativ steigert. Eine Erklärung hierfür können wir nur vermuten. Es lassen sich die erwähnten möglichen Fehlerquellen der Thrombinverdünnungsreihe anführen. Besondere Beachtung ist offensichtlich der Stabilität eines optimalen pH-Wertes zuzumessen. Die Pufferung mit Diäthylbarbitursäure (pH-Wert = 7,6) wirkt sich bei allen Versuchen für beide Fibrinogenlösungen günstig aus, beim normalen Erwachsenen-Fibrinogen in stärkerer Weise. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass wir mit unseren Untersuchungen einen qualitativen Unterschied des Neugeborenen-Fibrinogens vom normalen Erwachsenen-Fibrinogen in Bezug auf seine Gerinnungsfähigkeit nicht belegen können. Einen immunologisch-chemischen Unterschied der beiden Fibrinogene (21, 43) zu untersuchen, lag ausserhalb unserer Möglichkeiten. Er erscheint keineswegs ausgeschlossen.

Ob das Neugeborenen-Fibrinogen unter der Reindarstellung in stärkerem Masse und in einer Weise gelitten hat, die mit der Kjeldahl-Bestimmung nicht erfasst werden kann, können wir nicht sagen. Hinsichtlich der Labilität und Beeinflussbarkeit der beiden gereinigten Fibrinogene kann gesagt werden, dass das Neuge-

borenen-Fibrinogen offensichtlich stärker auf Milieuveränderungen (pH-Wert, Temperatur, Salzkonzentration, Konzentration an Aktivatoren und Inhibitoren, fibrinolytische Verunreinigungen usw.) reagiert als das Erwachsenen-Fibrinogen.

Als wahrscheinlich müssen wir nach unseren Untersuchungen auch annehmen, dass eine im Nabelschnurblut auftretende Hyperkoagulabilität nicht die zweite Phase der Blutgerinnung, also die Umwandlung von Fibrinogen in Fibrin unter Einwirkung von Thrombin betrifft.

Die Thrombokinaseverdünnungsreihe zeigt deren starke gerinnungsfördernde Tendenz selbst bei hohen Verdünnungsgraden. Eine geringfügige Ausschwemmung der Placenta-Thrombokinase in das kindliche Blut, die als eine der Möglichkeiten der Hyperkoagulabilität diskutiert werden muss, würde sich in jedem Fall stark im Sinne einer Verkürzung der Gerinnungszeiten auswirken.

Der Vergleich von Plasma- und Nativblut-TEG der Mutter und vom Neugeborenen ergibt auffallende Unterschiede. Die Plasma-TEG-Ergebnisse zeigen eine deutliche Hyperkoagulabilität im Nabelschnur-Plasma an, während das Nativvenenblut aus der Nabelschnur demgegenüber verlängerte Werte aufweist. Der Messwert k_1 bis zum Beginn der Thrombusbildung ist gegenüber der Erwachsenennorm in der Mehrzahl der Fälle auch im Nabelschnurnativblut leicht verkürzt.

Nach Koller (20) müssen die Konzentrationswerte von Fibrinogen, Prothrombin, Faktor V und VII allein oder zusammen bis auf 10 % der Norm vermindert sein, ehe es zu einer Verlängerung der Nativblutgerinnungszeit kommt, die ebenfalls noch keine klinisch manifeste hämorrhagische Diathese ergeben muss. Nach Marx (28), Koller (20) und J. Jürgens (13) entsteht eine hämorrhagische Diathese weniger häufig durch ein Absinken oder einen Mangel an Gerinnungsfaktoren als hauptsächlich durch das Überwiegen eines Inhibitors oder Hemmkörpers und zusätzlicher Gefäßschäden.

Die verminderte Konzentration fast aller Gerinnungsfaktoren im Nabelschnurblut braucht sich also nicht auf die Gerinnungsfähigkeit im Nativblut in manchen Testen auszuwirken. Tritt eine Hyperkoagulabilität im Nabelschnurblut auf, so kann sie ihre Erklärung in den oben kurz angedeuteten Möglichkeiten finden. Eine generelle Übergerinnbarkeit des Neugeborenen-Fibrinogens müssen wir nach unseren Untersuchungen für unwahrscheinlich halten. Bei Vorliegen eines besonders gerinnungsfähigen Fibrinogens in der Nabelschnur müsste auch bei vermindertem Prothrombingehalt die Thrombokinasezeit normal sein.

In Wirklichkeit ist aber die Thrombokinaszeit⁺ (früher Prothrombinzeit, 11) Nabelschnurplasma verlängert (31a). Tritt im Nabelschnurblut eine Fibrinolyse auf, was nach Untersuchungen verschiedener Autoren (1, 22, 25, 26) in einem hohen Prozentsatz der Fall ist, so ist nach Untersuchungen von Gross und Mitarbeitern (11), Kappert (16) und anderen zu erwarten, dass besonders geringe Mengen von fibrinolytisch wirksamen Substanzen eine Beschleunigung der initialen Gerinnung in vitro induzieren. Kappert konnte durch seine mit Urokinase und Streptokinase angestellten Versuche zeigen, dass diese Fibrinolytika direkten Einfluss sowohl auf die Nativ-blutgerinnung als auch auf die einzelnen Faktoren nehmen. Er findet auch eine proportionale Abhängigkeit der initialen Hyperkoagulabilität während der Plasmin-Aktivierung durch Streptokinase von der Konzentration der Blutplättchen. Plättchenfaktor 3 wirkt aktivierend auf die Thrombinbildung (1, 24, 42). Aus den Befunden mit Streptokinase oder Urokinase inkubierter Fibrinolyse-systeme kann geschlossen werden, dass mit diesen Substanzen die Freisetzung von thromboplastischem Material erleichtert wird, das an der Oberfläche der Plättchen haftet (16). Der Vorgang kann durch Plasmin-Inhibitoren gehemmt werden. Kappert kommt bei der qualitativen und quantitativen Untersuchung des Fibrinogens in diesen Versuchen zu dem Ergebnis, dass der gerinnbare Anteil des Fibrinogens abnimmt und sich das Fibrinogen immunbiologisch verändert. Es muss noch erwähnt werden, dass nur geringfügige "Verunreinigungen" mit fibrinolytisch wirkenden Substanzen eine Gerinnungsbeschleunigung hervorrufen können. Bei höherer Konzentration an Fibrinolytika überdeckt der Effekt der Lysis den initialen gerinnungsbeschleunigenden Effekt. Bei stärkerer Plasmin-Aktivität wird ausserdem in erhöhtem Masse Fibrinogen angegriffen und proteolytisch gespalten, was nicht nur die Fibrinogenkonzentration herabsetzt, sondern vor allem durch die Aktivität der als Antithrombin VI wirkenden Fibrinbruchstücke zu einer Verlängerung zumindestens der Thrombinzeit in vitro, bei stärkerer Konzentration dieser Hemmstoffe sicherlich auch zu einer Verlängerung der Gesamtgerinnungszeit führt, da diese Bruchstücke die Reaktion Thrombin-Fibrinogen direkt hemmen.

Die Möglichkeit einer besonderen Aktivität bestimmter Gerinnungs-Faktoren im Nabelschnurblut, besonders des Prothrombins ("free prothrombin" n. Quick), muss diskutiert werden. Besondere Bedeutung muss der Aktivität der Faktoren XI und VII zugemessen werden, da diese Faktoren nach Kontakt mit einer benetzbaren Oberfläche -wobei hier hauptsächlich Endotheldefekte der Gefässe gemeint

⁺ bzw. der "Quickwert".

sind- gewissermassen die Initialzündung der intravasalen Gerinnung darstellen. Nach Beller (1) besteht die Möglichkeit, dass die Lipoidkomponente der Placenthathrombokinase die Placentarschranke zu überschreiten vermag und nach Vereinigung mit einem Proteinanteil die Aktivität der Thrombokinase wiedererlangt. Einige Punkte erscheinen uns von Wichtigkeit, um abschliessend nochmals festgehalten zu werden:

1. Das Absinken des Titers bestimmter Progerinnungsfaktoren muss nicht unbedingt zu einer Hypokoagulabilität im Nativvenenblut der Nabelschnur (in manchen Testen) und zu einer hämorrhagischen Diathese führen.
2. Die Hyperkoagulabilität im Nabelschnurblut ist nach den TEG-Untersuchungen von H. Ludwig nur im Plasma in der Mehrzahl der Fälle, nicht aber in allen Fällen in genügend deutlicher Weise im Nativblut nachweisbar.
3. Die jeweilige Situation (Schwere der Geburt, "Stresszustand", Hyperfibrinolyse, Hämostase, Thrombose usw.) scheint von Wichtigkeit zu sein.
4. Die oben aufgeführten Möglichkeiten können situationsbedingt auftreten und zu einer Hyperkoagulabilität im Nabelschnurblut führen, wobei wir vor allem dem Vorliegen einer Hyperfibrinolyse eine grössere Bedeutung beimessen. Wir können nach unseren Untersuchungen die Erklärung der Hyperkoagulabilität im Neugeborenen-Blut durch das Vorhandensein eines spezifischen besonders gerinnungsfähigen Fibrinogens nicht belegen (jedenfalls gegenüber Rinder-Thrombin).

Das unterschiedliche Verhalten von Nabelschnur-Plasma und Nativblut im TEG legt die Frage nahe, ob es sich bei der Übergerinnbarkeit des Nabelschnur-Plasmas und in einem geringen Teil der Fälle auch des Nativblutes um die generelle Übergerinnbarkeit in allen Situationen, also z.B. Wunden und bei Gefässverletzungen in vivo, oder nur eine partielle Übergerinnbarkeit in einem Test handelt. Es darf nicht vergessen werden, dass man mit allen Testen dem physiologischen Zustand nur sehr wenig nahekommt. Bei den Begriffen Hyper- und Hypokoagulabilität kann man entweder einen Test, eine Testkombination oder das Nativblut sozusagen zum Mass aller Dinge machen. Man kann auch die Auswirkung der Veränderung des Blutes für den Patienten in den Vordergrund stellen. Es ist eigentlich beim Neugeborenen nur fraglich, wie die bei einem Teil der Fälle etwas verkürzte Nativvenenblut-Gerinnung in vitro bzw. im TEG (r u. k₁)

zu erklären ist. Das von Untersuchungsbedingungen und der besonderen Situation des Neugeborenen abhängende Verhalten des Nativvenenblutes aus der Nabelschnur und dessen Aussagewert steht zur Debatte.

Meinem verehrten Doktorvater, Herrn Prof. Dr. R. Marx danke ich herzlich für die Überlassung des Themas, die Bereitstellung des Arbeitsplatzes, die Übernahme des Referates und die grosszügige Hilfe durch Rat und Tat, die er mir während des Entstehens meiner Arbeit zueil werden liess.

Herrn Prof. Dr. H. Schwegk danke ich für die Übernahme des Korreferates.

Zu grossem Dank ich ich auch Herrn Dr. H. Ludwig von der I. Frauenklinik der Universität München verpflichtet für die Ausführung der Blutabnahmen und der TEG-Untersuchungen, die er mir zur Verfügung stellte.

Nicht zuletzt gilt mein Dank den beiden Mitarbeiterinnen im Hämatologischen Labor, Frau Vogelsank und Frau Meisner, die mir über die ersten Schwierigkeiten hinweg halfen.

LITERATURVERZEICHNIS

1. BELLER, F.K.:
Die Gerinnungsverhältnisse bei der Schwangeren und beim Neugeborenen,
Joh.Ambr.Barth-Verlag, Leipzig 1957
2. BIGGS, R. und R.M.McFARLANE:
Kongress der Europ.Hämatolog.Gesellschaft, Amsterdam 1953
3. BLOMBÄCK, G.:
Studies of Fibrinogen. Its Purification and Conversion into Fibrin.
Acta Physiol.Scandinavica, vol.43, Suppl.148, 1958.
4. BLOMBÄCK, G. und H.HENSCHEN:
Umwandlungsformen des Fibrinogens.
3.Marburger Symposion für Biochemie und erbliche Proteinfekte, 1961
5. BURSTEIN, P.M.:
Substances fibrinoplastiques et antifibrinoplastiques.
Revue d'Hematologie, 587, 1952.
6. BURSTEIN, P.M.:
Sur l'Existence du Fibrinogene Foetal
La Sang 25, 102, 1954
7. FERGUSON, J.H. und B.N.ERIKSON:
The Coagulation of Blood under Various Conditions
Amer.Journal Physiol.126, 661, 1949.
8. FERRY, J.D. und P.H.MORRISON:
Preparations and Properties of Serum and Plasma Proteins
VIII. The Conversion of Human Fibrinogen to Fibrin under Various Condition.
J.Amer.chem.Soc.69, 388, 1947.
9. DEUTSCH, E.:
Blutgerinnungsfaktoren.
F.Deuticke-Verlag, Wien 1955
10. GROSS, R.: Einige klinische Aspekte von Fibrinolyse und Thrombolyse.
Behringwerk-Mitteilungen, Heft 41, Thrombolyse 1962.

11. GROSS, R.: Blutgerinnung und Fibrinolyse.
Behringwerk-Mitteilungen Heft 44, Thrombolysetherapie mit Streptokinase, 1964.
12. GROSS, R., W. HARTL, G. KLOSS und B. RAHN:
Thrombolyse durch Infusionen hochgereinigter Streptokinase.
Dtsch. Med. Wschr. 49, 2129, 1960.
13. JÜRGENS, J.:
Diskussionsbemerkung in Internationales Symposion Hämorrhagischer Diathese, Wien 1955
14. JÜRGENS, R.:
Internationales Symposion Hämorrhagische Diathesen, Wien 1955
15. JÜRGENS, R.:
Gefässfaktoren, Thrombozyten und Fibrinogenmangel, aus H. Runge und I. Hartert: Physiologie und Pathologie der Blutgerinnung,
Internationales Symposion, Heidelberg 1956
16. KAPPERT, A.:
Experimentelle und klinische Untersuchungen über arterielle Thrombogenese und Fibrinolyse
Hel. Med. Acta ad vol. 29, 1962
17. KARLSON, P.:
Kurzes Lehrbuch der Biochemie für Mediziner und Naturwissenschaftler.
G. Thieme-Verlag Stuttgart 1962.
18. KEKWICK, R. A., M. E. MACKAY, M. H. NANCE and B. R. RECORD:
The Purification of Human Fibrinogen.
The Biochem. Journal vol. 60, 1955, 671.
19. KOCH, F.: Bluteiweissuntersuchungen beim Neugeborenen unter Berücksichtigung der Gerinnungsstörungen.
Symposion der Universitätsfrauenklinik Giessen, 1961
Beilageheft zu Band 159 der Zeitschrift für Geburtshilfe
20. KOLLER, F.:
Internationales Symposion Hämorrhagische Diathesen, Wien 1955

21. KÜNZER, W.:
Diskussionsbemerkung im Symposium der Universitätsfrauenklinik Giessen 1961.
Beilageheft zu Band 159 der Zeitschrift für Geburtshilfe.
22. KÜNZER, W.:
Zur Physiologie der Blutgerinnung beim Neugeborenen
Vorlesung am 8.11.1963 in Freiburg. Aus Keller, W. und
Künzer, W.: Zwei Vorlesungen,
G.Thieme-Verlag, Stuttgart 1964.
23. LASCH, H.G. und L.ROKA:
Zur Prothrombinbildung in der Leber.
Hoppe-Seylers Zschr.Physiolog.Chemie 294, 1953.
24. LUDWIG, H.:
Persönliche Mitteilung.
25. LUDWIG, H., W.HUKE und H.SCHLAMMER:
Blutgerinnung und Fibrinolyse unter der Geburt. Klinische und
experimentelle Ergebnisse zur Anwendung der Epsilon-Amino-
capronsäure in der Geburtshilfe und Gynäkologie.
Ausstellung 35, Tagg.Dtsch.Gesellschaft f.Gynäk. München
1964
26. HUKE, W.: Studien zur Blutgerinnung und Fibrinolyse unter der Geburt.
I.Frauenklinik München. Inaugural-Dissertation im Druck.
27. MARTIUS, H.:
Lehrbuch der Geburtshilfe, 5.Auflage.
G.Thieme-Verlag Stuttgart, 1962, S.206.
28. MARX, R.: Internationales Symposium Häorrhagische Diathesen, Wien
1955
29. MARX, R. und H.BAYERLE:
Zum Problem der Ätiologie und der Prophylaxe der hämorrhagischen
Diathese der Neugeborenen.
Ärztliche Forschung 4, 250, 1950.
30. KÖPPEL, G.:
Die Umwandlung des Fibrinogen in Fibrin. Elektronenmikroskopische
Untersuchung zur Funktionsmorphologie des Fibrinogens,
des Fibrins und der Thrombozyten bei spontanem Gerinnungs-
ablauf im menschlichen Normalblut.

31. MARX, R.: Dissertation bei: M. Weinzierl: Solufibrin, Studien in vivo und in vitro mit harnstofflöslichem Fibrin, 1963.
- 31a. MARX, R.: Persönliche Mitteilung.
32. MÜLLER-SEIFERT:
Taschenbuch der med.-klinischen Diagnostik, 68. Auflage,
Bergmann-Verlag, München 1962.
33. DE NICOLA, P.:
Veränderungen der Blutgerinnung in der Schwangerschaft bei
puerperalen Zuständen und beim Neugeborenen,
Physiologie und Pathologie der Blutgerinnung.
Internationales Symposium Heidelberg 1956.
34. NOSSEL, P.:
The Contact Phase of Blood Coagulation
Black-well Scientific Publications 1964
The Kemp Hall Bindery, Oxford.
35. QUICK, A.J. and M.E. HICKEY:
Influence of Erythrocytes on the Coagulation of Blood.
Amer. J. Sc. 239, 101, 1960.
37. SCHERAGA, H.A. und M. LASKOWSKY:
The Fibrinogen-Fibrin Conversion,
Advances in Protein Chemistry, vo. 12, 1-123, 1957.
38. SCHNEIDER, C.:
Fibrination and Defibrination,
aus H. Runge und I. Hartert: Physiologie und Pathologie der
Blutgerinnung
Internationales Symposium Heidelberg 1956.
39. SCHWIEGK, G.:
Biochemie der Fibrinolyse.
Behringwerk-Mitteilungen, Heft 44, 1964.
40. SCHWIEGK G.:
Schriftliche Mitteilung.
41. VALQUIST, B. V., WESTBERG und M. LAS HARRAS:
cit. nach Beller: Die Gerinnungsverhältnisse bei Schwangeren
und bei Neugeborenen.
Act. Soc. Med. Upsala vol. 53, 281, 1953.

42. SEEGER, W.H.:
Prothrombin,
Harvard Universität Press, Cambridge Massachussetts 1962.
43. RUHENSTROHT, F.:
Disk.bem. in Symposion der Universitätsfrauenklinik Giessen,
1961.
Beilageheft zu Bd.159 der Zeitschr.für Geburtshilfe.
44. ZILIACUS, H.:
Die Physiologie der Blutgerinnung bei geburtshilflichen Patienten:
Pathologie und Physiologie der Blutgerinnung
Internationales Symposion, Heidelberg 1956.
45. BLOMBÄCK, G., H.BOSTRÖM und A.VESTERMARK:
On the (^{35}S) sulphate incorporation on Fibrinopeptid B from
rabbit fibrinogen.
Biochem.biophys.38, 502-512 (1960).

LEBENS LAUF

Als erster Sohn des Kaufmanns Heinz Gerbitz und dessen Ehefrau Gisel, geb. Winckel, wurde ich am 21. September 1939 in Wriezen, Markt Brandenburg geboren. Nach Kriegsende besuchte ich in Kempten/Allgäu die Volksschule und das dortige Hum. Gymnasium, an dem ich 1960 das Abitur bestand. Im Herbst des gleichen Jahres begann ich mein Studium an der hiesigen Universität, an der ich nach dem Sommersemester 1961 das Vorphysikum, nach dem Wintersemester 1962/63 das Physikum ablegte. Zur Zeit lege ich mein Staatsexamen ab, das am 22. Juni 1966 beendet ist.

